中華農業研究 (Jour. Agric. Res. China) 45(1)：35～46 (1996)

甘藍及青花菜的花藥培養

I.品系、發育期及培養基與再生之關係[1]

張有明　劉邦基　蕭吉雄[2]

摘要：甘藍初秋、和風及高峰三品種進行不同發育期的花藥培養；結果顯示花蕾在0.4公分以下（約晚單核期前）培養所誘導癒合組織率高。青花菜和甘藍各11品種（系）行花藥培養，培養基採用 MS 配方，另加2,4-D 和 BA 不同濃度組合。甘藍於液態培養時的癒合組織生成率比固態培養高，唯癒合組織較光滑、鬆散；而品種間差異極大，癒合組織生成率介於 0 ～47.3%。青花菜品種間癒合組織生成率差異也頗大，但固態或液態培養則差異不明顯。生長調節劑 BA 濃度爲0.5ppm 時，不論液態或固態培養皆有利於甘藍及青花菜癒合組織的生成；2,4-D 濃度在癒合組織的誘導上，品種間反應不一，唯其平均之效果均以0.5 ppm 和1 ppm 較佳。將0.5公分以上大小的癒合組織，移至含有0.5ppm　BA 和三種 NAA（4 0 ，0.5，1 ppm）濃度的分化培養基中，經由間接器官形成途徑，青花菜和甘藍共有 4 品種（系）已獲得再生植株。移植前先培養於含有蛭石和珍珠石之介質（取代洋菜），並促進根系健全發育，可以提高組織培養苗移植到田間的成活率。植株經根尖體檢定，已知部份爲單倍體植株。

關鍵詞：青花菜、甘藍、花藥培養、單倍體。

十字花科蕓苔屬爲非常歧異化的（diversity）植物，同時大多爲自交不親合，遺傳組成呈高度異結合性[16]。本屬植物由於用途廣泛而成爲世界性之經濟作物[26]。在本省栽培的種類很多，如芥菜、結球白菜、小白菜、芥藍、青花菜、花椰菜和甘藍等，均爲重要之經濟作物[1]；其中甘藍和青花菜的栽培面積更高達一萬公頃以上[4]，全年均有栽培，爲本省重要的蔬菜之一。

單倍體或同質結合之雙倍體材料，在作物遺傳、育種研究上極具價值[3,5,9]。由於蕓苔屬的青花菜和甘藍爲異交作物，傳統方法需較長時間才能育成同質結合之自交系；且在選育過程中，有明顯的自交弱勢現象，造成選拔上極大之困擾；不利於同質結合自交系之培育，影響育種工作甚鉅[18]。若能以花藥培養的方法，產生單倍體或自然倍加之同質雙倍體植株，對蕓苔屬高純度自交系的獲得及一代雜交種之育成極爲重要[2,10,11]。報導指出西洋油菜（*Brassica napus*）[12]、中國白菜（*B. campestris* ssp. *pekinensis*）[23]和青花菜（*B. oleracea* L. var. *italica*）[14,22]等，均能經由花藥培養產生單倍體，而且多數是以胚發生（embryogenesis）的路徑產生單倍體植株。已知花藥培養能否成功，受基因型的影響極大[20]；因此本研究擬以不同來源的甘藍（*B. oleracea* L. var. *capitata*）和青花菜（*B. oleracea* L. var. *italica*）品種（系），進行花藥培養，探討不同的基因型及培養基，誘導花藥培植體再生植株之效率。

---

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第 1829 號。
2. 臺灣省農業試驗所園藝系助理研究員、副研究員、研究員兼系主任。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。

材料與方法

一、供試材料：

收集美國、日本及國內的青花菜和甘藍地方品種、商業品種及部份農試所的雜交後代（表１）。播種於溫室，俟植株莖粗0.5～１公分左右移至光照16小時５～８°C低溫的生長箱，行春化處理４至８週，秋冬天則利用天然低溫（臺大　梅峰農場，海拔約2,000公尺左右），以獲得大量花蕾。於抽苔開花時，取田間或生長箱之花蕾，經消毒後再進行培養。

表 1. 甘藍和青花菜花藥培養供試品系

Table 1. The tested materials of cabbage and broccoli for anther culture

variety	generation	source	
cabbage			
初秋	F_1	Takii	
純系-3	S_2	91-302	
(夏峰１號×巴西-2) F_5→op	op	91-087	
(PI281552×初秋) ⊗	F_8	91-112	
(PI281552×初秋) F_7⊗→op	op	91-116	
(PI281552×初秋) F_7⊗→op	op	91-118	
〔(PI281552×60日)×初秋〕⊗	F_8	91-130	
〔(PI281552×$F_1$107)F_4〕op→⊗	S_4	91-131	
〔(PI281552×$F_1$107)F_4〕op→⊗	S_4	91-151	
〔(PI281552×$F_1$107)F_4〕op→⊗	S_4	91-177	
〔(PI281552×$F_1$107)F_4〕op→S_3→op	op	91-185	
broccoli			
綠王	F_1	農友公司	
綠芳	F_1	農友公司	
Broccoli-mikamo	F_1	農協行	TVI6665
Broccoli	F_1	第一園藝	TVI6666
綠嶺	F_1	Sakada	TVI6667
Gulicome greencorn	F_1	Takii	TVI6669
Hai Tzu	F_1	Takii	TVI6670
Baiolo Tokuin	F_1	Takii	TVI6671
Calaxy	F_1	Asgrow	TVI6723
Neptune	F_1	Royal Sluis	TVI6728
XPH5004	F_1	Asgrow	TVI6734

二、培養條件：

將大小不同的花蕾取下，以75％酒精浸泡30秒，再放到超音波振盪器中，用稀釋五倍的 chlorox 浸泡20分鐘，每次浸泡後均以無菌水清洗三次，於無菌臺上剝取花藥，置於不同的培養基中。培養時先以37°C高溫暗處理24小時，再移至適溫（26～28°C）不照光下進行培養，此方法乃參考 Keller 和 Armstrong (1983)[14]並稍加修正。每週調查一次花藥及癒合組織生長和分化的情形。

㈠不同蕾期試驗：用初秋（Chu Chou, K.K.）、和風（Tropical Delight）和高峰（Summer Summit）等三種甘藍，以 MS 培養基進行固態培養，將花蕾分成七級（表２），每級四重複，每重複６個花藥。

表 2. 三種甘藍不同花蕾大小其花藥培養的癒合組織誘導率

Table 2. Percentage of callus formation from anther culture of different development stages of 3 cabbage varieties.

Size of flower buds (mm)	Summer Summit	Tropical Delight	Chu Chou (K.K.)	Total
1. grade 0～2	20.8(%)z	39.0(%)	0 (%)	19.1(%)
2. grade 2～3	0	19.2	31.8	16.9
3. grade 3～4	0	60.8	59.3	24.4
4. grade 4～5	0	23.0	0	7.5
5. grade 5～6	–y	4.3	8.3	8.1
6. grade 6～7	–	—	0	0
7. grade 7～8	–	—	10.0	3.7
Total	1.8	19.5	20.4	15.2

z anthers with 4 replication for pertreatment

y non test

(二)癒合組織誘導 (callus induction)：培養基以 MS (Murashige and Skoog,1962) 爲主，處理分固態和液態培養兩種，再依生長調節劑 BA(6-benzylamino purine)兩種濃度 (0.5，1.0 ppm) 和2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) 四種濃度 (0，0.5，1.0，2.0 ppm)，搭配成不同組合，並以不含此二種生長調節劑之培養基爲對照，合計18種處理，每處理四重複，每重複六個花藥。洋菜濃度爲0.8%，蔗糖含量爲 3 %。

(三)癒合組織再分化誘導：由花藥所衍生的癒合組織，生長達0.5公分以上者，移至含有0.5 ppm BA 及不同 NAA (α-naphthalene acetic acid) 濃度 (0，0.5及 1 ppm) 的三種分化培養基，誘導再生 (由藥柄處長出的則不繼代培養)。

(四)試管苗的移出：將再生之不定芽切下，扦插於含 MS 的發根培養基 (以二份蛭石加一份珍珠石取代洋菜當介質)，於發根後加強光照二至三週以健化植株；再將小植株移出試管，先假植於含有蛭石與珍珠石介質 (相同於發根培養基) 的塑膠籃內，蓋上塑膠膜以減少蒸散作用；並置於每日16小時光照、溫度在20～22°C之生長箱中，經一到二週後再移到溫室栽植。

結　果

和風、高峰和初秋三種甘藍，取不同大小之花蕾 (圖 1)，先進行不同發育期之花藥培養，並同時觀察其花粉發育過程。結果顯示花蕾在 3～4 mm大小時培養，可獲得最高之癒合組織生成率、0～2 mm 次之，4 mm 以上則較差 (表 2)。唯 2 mm以下花蕾，因其花藥極幼小，操作困難易帶有花絲。因此往後取材均以 2～4 mm 左右之花蕾爲主。經鏡檢得知此花粉發育期，大約是介於四分子期到晚單核期之間。

本試驗取甘藍和青花菜品種 (系) 各十一種 (表 1)，進行不同的生長調節劑濃度、液態與固態培養，以瞭解基因型、培養基和生長調節劑對癒合組織再生之影響。結果顯示不同品種的癒合組織生成時期早晚大致一樣，在培養第一、二週即可看到花藥開裂；培養三、四週後，可發現由開裂處長出癒合組織 (圖 2)。青花菜在液態和固態培養下，雖其癒合組織平均生成率皆差不多，但品種間表現則差異頗大 (表 3)；固態培養基的生成率從 0 到12.2%，其中以 TVI6671 品種表現最好，最差是綠芳品種；液態則從 0 到10.6%，以 TVI6669 品種最好；而在固、液態二者中表現均不錯的是 TVI6669 和 TVI6723 兩品種。甘藍的癒合組織生成率除了 91-151 品系固態培養比液態培養較好外，其餘10種均以液態培養較佳，誘導癒合組織的生成率，平均比固態高出兩倍多 (表 3)。不同品

種（系）甘藍固態培養，癒合組織生成率從 0 到11.8%；其中以 91-087 和 91-116 品系表現爲佳，最差的是 91-118，91-130 和純系-3等三品系；液態培養則品種（系）間差異最大，從 0 到47.3%；其中生成率最好的也是 91-116 品系，大約每二個花藥就有一個長出癒合組織，91-130 品系則表現最差，在固態和液態培養下，花藥均很快的褐化逐漸變黑而死亡。唯液態培養的甘藍和青花菜，很多癒合組織是由花藥與藥柄接觸地方長出來的；且不論是青花菜或甘藍，由液態培養而來的癒合組織質地均較光滑且鬆散，經繼代培養後易褐化或祇進行癒合組織增生、其再生能力均較差（圖 3）。

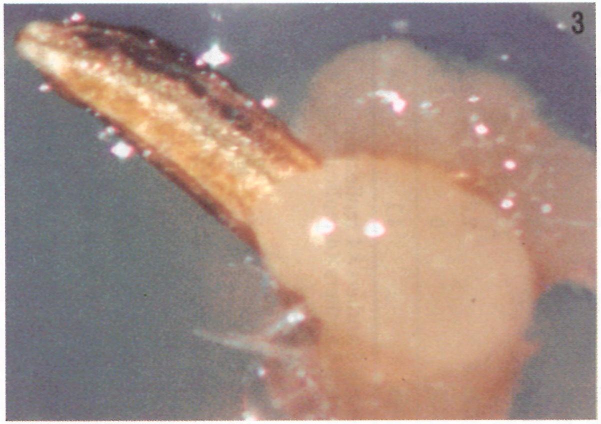
表 3. 不同甘藍與青花菜品種在固態或液態培養基下之癒合組織生成率[z]

Table 3. The ratio of callus formation on liquid or solid culture medium in different cabbage and broccoli varieties.

Cabbage (%)			Broccoli (%)		
Variety	Solid	Liquid	Variety	Solid	Liquid
初秋	3.4	13.8	綠王	3.1	1.2
純系-3	0	0.5	綠芳	0	2.0
91-087	10	19.8	TVI6665	2.5	3.7
91-112	1.1	9.4	TVI6666	1.1	1.0
91-116	11.8	47.3	TVI6667	1.4	6.2
91-118	0	0.5	TVI6669	4.2	10.6
91-130	0	0	TVI6670	2.0	0
91-131	2.1	3.5	TVI6671	12.2	0
91-151	2.7	0.4	TVI6723	11.8	4.7
91-177	3.3	9.3	TVI6728	3.2	0.9
91-185	0.5	2.6	TVI6734	1.0	0
Average	3.07	8.95		2.99	2.88

[z] 9 treatments×6 anthers×4 replication

植物生長調節劑處理上，BA 的效果整體而言頗佳（表 5）。平均而言，甘藍和青花菜在含有 BA 濃度0.5 ppm 時，表現較 1 ppm 爲佳（表 4），在液態或固態的情形也一樣（表 5）。而各品種（系）的表現，除 91-131 甘藍和三種青花菜（TVI6666，TVI6667 與 TVI6734）等品種（系）外，也都有這種趨勢（表 5）。2，4-D 的處理效果，不同種（青花菜或甘藍）之間對2，4-D 的反應，會隨固態或液態的處理而有所不同（表 5）。固態培養的甘藍隨2，4-D 濃度上升，其生成率也隨之上升，平均以 2 ppm最佳；而青花菜的固態培養平均以 1 ppm爲最佳，0.5 ppm 次之。液態培養的甘藍除 0 ppm 外，剛好和固態培養的相反，2，4-D 濃度愈高其生成率反而愈低；而液態培養的青花菜，平均則以0.5 ppm 最高，2 ppm 次。但若依青花菜或甘藍的癒合組織生成率總平均值來比較，則表現頗爲一致；即在2，4-D 0 ppm 時癒合組織的生成率極低，0.5 ppm 最佳，但隨濃度提高而生成率有逐漸降低的趨勢。在所有的甘藍和青花菜品種（系）之間，對2，4-D 的反應（表 4）；是以 91-116 品系甘藍表現最好，0.5及 1 ppm 的2，4-D 處理，其生成率均可達50%左右；其次是初秋在0.5 ppm 濃度下，生成率達27.3%；而 91-087 品系在0.5，1 和 2 ppm 也均有很好的表現，平均都在20%以上。青花菜品種則除 TVI6670 和 TVI6723 兩品種表現較佳外，其餘均不理想。而兩種作物中，表現最差的則是甘藍 91-130 品系，均無癒合組織的生成。



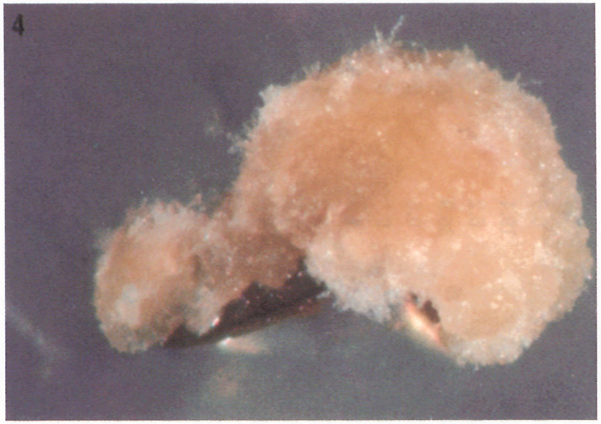


圖 1.　甘藍參試培養用之花藥大小，上排由左至右爲 2 ～ 4 mm

Fig. 1. Size of flower buds in anther culture of cabbage. Respectively, 2 ～ 4 mm from left to right on up line.

圖 3.　表面光滑，質地鬆散的癒合組織

Fig. 3. Smooth surface and friable texture of callus.

圖 2.　培養三～四週自開裂花藥長出癒合組織

Fig. 2. Callus derived from openning anther after 3 ～ 4 weeks in culture.

圖 4.　表面粗糙、質地緊密的癒合組織

Fig. 4. Rough surface and firm texture of calus.

表 4. 11種甘藍和11種青花菜花藥在不同 BA 與 2，4-D 濃度下的癒合組織生成率

Table 4. The of callus formation on different concentrations of BA and 2,4-D in 11 cabbage and 11 broccoli varieties.

variety	BA(ppm)[z]		2，4-D (ppm)[y]			
	0.5	1.0	0	0.5	1.0	2.0
cabbage (%)						
初秋	4.3	3.3	0	27.3	4.3	13.8
純系-3	0.6	0	0	1.2	0	0
91-087	19.4	13.8	0	22.9	20.0	24.7
91-112	6.2	1.1	0	1.1	2.2	3.2
91-116	36.9	30.8	0	49.5	53.9	31.9
91-118	0.5	0	0	0	1.2	0
91-130	0	0	0	0	0	0
91-131	1.3	5.5	0	1.3	7.1	2.7
91-151	2.2	1.2	0	7.8	0	0
91-177	9.9	6.1	0	4.4	1.1	7.2
91-185	3.0	0.5	0	0	5.3	1.3
Average	8.3	5.4	0.1	11.3	9.3	7.1
broccoli (%)						
綠王	4.7	0.3	2.5	3.0	3.0	0
綠芳	1.3	0.08	0	1.7	1.5	1.0
TVI6665	5.7	1.0	0	8.2	1.1	3.9
TVI6666	0.6	1.1	1.6	1.1	0	1.2
TVI6667	4.0	5.08	0	7.2	5.8	4.9
TVI6669	8.9	8.3	1.5	12.8	8.2	11.0
TVI6670	1.1	0.8	0	0	2.6	1.5
TVI6671	3.9	4.0	0	10.8	1.2	3.4
TVI6723	14.0	4.0	0	9.6	16.7	11.8
TVI6728	2.6	2.0	0	3.8	5.1	0
TVI6734	0	1.3	0	1.3	0	1.4
Average	4.1	2.4	0.6	5.1	3.9	3.1

[z] 2 treatments×6 anthers×4 replication
[y] 4 treatments×6 anthers×4 replication

將大小在0.5公分以上，表面粗糙、質地緊密的癒合組織（圖 4），平均分配的移至含有0.5 ppm BA 和三種不同 NAA 濃度的分化培養基中（表 6）；結果顯示不含 NAA 或含有0.5 ppm 均能誘導癒合組織分化，長出叢生狀綠色芽球體（圖 5），進而分化成含根莖葉的小植株（圖 6）；此再生之途徑是走間接器官（組織）發生（indirect organogenesis）的途徑。由一個花藥來的癒合組織，可陸續誘導出 5 ～20株不等的小植株。將小苗分株切下，移到不含生長調節劑的 MS 培養基中，並用二份蛭石加上一份珍珠石當介質取代洋菜（圖 7），並提高糖含量至 6 %，以促進發根。約一到二週即可長出新根，此時提高光照強度（約3,000 LUX 以上）以健化其生長，約再經半個月，即可移出試管。不用洗清根部，直接假植在蛭石加珍珠石的混合介質中，用塑膠籃上面覆以保鮮膜或塑膠膜，置於每天照光16小時，溫度20～22°C的小型生長箱中，經一周後掀去覆蓋膜並移至溫室中，81株外移材料中僅 1 棵因植株太小，根系不佳，在水份 太多下腐爛，其成活率高達98%以上(圖 8)。取部份植株的根尖，經初步的染色體觀察，證實有單倍體植株再生。

表 5. 不同 BA 與2，4-D 濃度在固態或液態培養基下甘藍和青花菜花藥之癒合組織生成率

Table 5. The average ratio of callus formation on different conce- ntrations of BA and 2,4-D with liquid and solid medium coniditon in 11 cabbage and 11 broccoli varieties.

Medium	BA(ppm)	2，4-D 0	0.5	1.0	2.0(ppm)	Total	Percentag (%)
	cabbage						
Solid	0(ck)	0(244)[z]	-[y]	—	—	0(244)	0
	0.5	0(237)	12(227)	15(245)	11(247)	38(956)	3.97
	1.0	1(242)	4(216)	5(233)	17(224)	27(915)	2.95
Average of solid(%)		0.13	3.16	4.18	5.94		3.07
Liquid	0(ck)	0(252)	—	—	—	0(252)	0
	0.5	0(252)	54(241)	49(254)	19(234)	122(981)	12.44
	1.0	0(249)	35(247)	21(243)	19(230)	75(969)	7.774
Average of liquid(%)		0	18.24	14.08	8.19		8.96
Average of cabbage(%)		0.07	11.28	9.23	7.06		6.07
	broccoil						
Solid	0(ck)	0(310)	—	—	—	0(310)	0
	0.5	7(304)	15(323)	23(325)	14(313)	59(1,265)	4.66
	1.0	0(301)	12(310)	8(298)	04(295)	24(1,204)	1.99
Average of solid(%)		0.77	4.27	4.98	2.96		2.99
Liquid	0(ck)	1(304)	—	—	—	1(304)	0.33
	0.5	3(301)	25(322)	10(311)	6(316)	44(1,250)	3.52
	1.0	0(313)	13(319)	8(336)	15(294)	36(1,262)	2.85
Average of liquid(%)		0.44	5.93	2.78	3.44		2.88
Average of cabbage(%)		0.60	5.10	3.86	3.20		2.93

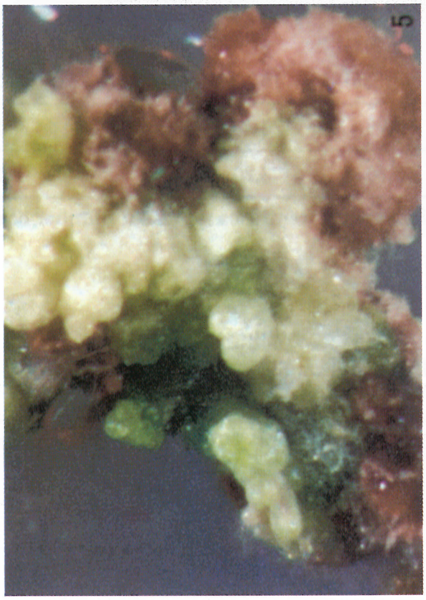
[z] In parenthesis represent the number of culture anthers, out parenthesis represent number of callusing anthers

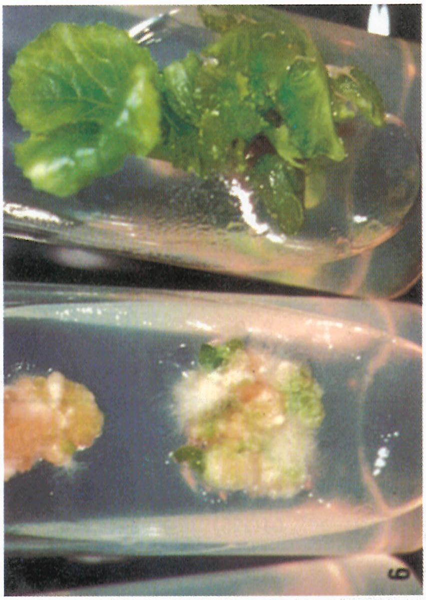
[y] non test

表 6. 2種甘藍和2種青花菜品種（系）花藥培養其誘導出植株之再生率

Table 6. The rate of plantlet formation from calli on 3 concentrations of NAA hormones in 2 cabbage and 2 broccoli varieties respectively.

variety	No. of anthers to cultured	No. of anthers forming calli	No. of anthers forming plantlets 0	0.5	1ppm(NAA)	Rate of anthers forming plantlets (%)
cabbage						
初秋	403	34	1	4	0	1.24
91-116	355	108	1	0	0	0.28
broccoli						
綠王	863	19	1	0	0	0.12
綠芳	838	8	0	1	0	0.12





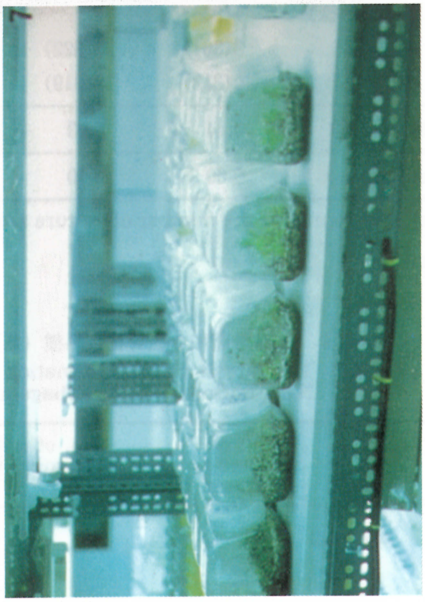


圖 5. 癒合組織長出之芽球
Fig. 5. Callus differentated into numerously organ-like structure.

圖 6. 由芽球繼續分化生長出小植株
Fig. 6. The adventitious buds development into plantlet.

圖 7. 微體繁殖與不定根誘導於無土介質
Fig. 7. Aseptical microcutting and root induction in soilless medium.

圖 8. 小植株移出培養盒之成活情形
Fig. 8. Survival plantlets transplanted from tissue culture box.

討 論

許多報告指出花蕾的大小，影響花藥培養時體胚或癒合組織的形成[2,10]。Takahata 等人[24]認爲西洋油菜（*B. napus*）以2.5～3.5mm 最適合培養；Keller 等人[11]進行蕪菁（turnip rape, *B. campestris*）不同蕾期的培養，結果顯示在晚單核到早雙核期爲佳，Sato 等人[23]進行中國白菜的花藥培養，和 Quazi[22]的青花菜花藥培養，也均指出以2～4 mm 大小的花蕾爲佳，此和本試驗結果一致，在2～4 mm 大小的花蕾，即約四分子期以後到晚單核期間，具有較高的誘導率，但和何[2]的結果則相反，這可能是品種上的差異所致[21]。Keller 和 Armstrong[14]及 Arnison 等人[6]的報告顯示，高溫處理等變溫方式，有助於花藥培養時體胚或癒合組織的形成。因此本試驗採用高溫37°C暗處理一天，其效果比均無癒合組織長出的對照組（資料未發表）爲佳。

甘藍和青花菜參試品種（系）各11種，其品種間差異很大，Biddington 和 Robinson[7]及 Keller 和 Armstrong[14]均認爲甘藍類爲異交作物，具有自交不親和性，因此其各品種的基因型，甚至株間均有不同；這也許可以解釋在甘藍品系中 91-131，91-151，和 91-177三種雖同一雜交品系後代，但癒合組織生成率差異很大的原因（表3，4）。根據 Phippen 和 Ockendon[21]指出花椰菜進行培養時，其體胚生成率比抱子甘藍差的原因是因爲花椰菜經春化處理後，其抽苔開花很快，盛花期短，花蕾間由於養分競爭劇烈，造成花藥培養的效率低。根據田間觀察，盛花期短之現象在青花菜更明顯（約3～5天），整個花蕾約有數百朵花，均於短時間內同時開放。而本試驗結果顯示，青花菜培養的癒合組織誤導率均比甘藍差，這可能是其原因之一。

Lichter 等人[17]和 Keller 等人[14]指出西洋油菜（*B. napus*）等一些蕓苔屬作物液態培養比固態好，青花菜[6]或其它作物如水稻[25]也以液態培養較佳；但 Phippen 和Ockendon[21]的結果則是以固態較好。Dunwell[8]則認爲此二種型態培養難以比較，因爲液態培養時，有些花藥會沉到底部，會因缺氧而無法長成體胚或癒合組織，因此比較時要考慮這些因素。本次試驗很少花藥沉底的情形，結果顯示癒合組織的誘導普遍以液態較佳。

一般花藥培養的 auxin 類，初期由花藥誘導體胚或癒合組織均以2，4-D 爲主[6,11]；也有的用 NAA，並認爲比 IAA 好[10]。本試驗2，4-D 的效果和 Quazi[22]或 Kameya 和 Hinata[10]等研究相似，以0.5～1 ppm 效果較好，太低或太高的濃度都不適合。在 cytokinin 方面，Quazi[22]的結果顯示 BAP（BA）濃度增加，其癒合組織生成率增加。本試驗顯示有些品種（系）如甘藍的 91-131 品系和青花菜的 TVI666，TVI6667 和 TVI6734 品系也有此現象。Keller 等人[11]在早期（1975）之實驗中，培養基上不加 BA；但到1983年代[14]以後的試驗，均加以1 ppm BA 以提高[15]。雖然本試驗品種間差異很大，大致上還是 BA 0.5 ppm 的效果較好。

有些癒合組織生成率高的品系（如 91-116 品系），其繼代培養再生效果反而差；往往一經繼代培養便很快的褐化或玻璃質化（vitrification），此一現象值得繼續探討。另嚐試改用其它生長調節劑或塡加 Ag NO_3，citric acid 或 ascorbic acid 之類的藥劑，以某求改善褐化及分化能力偏低（表6）的缺點，這將是下一步努力的重要之一。

表6所列的初秋甘藍及綠、王綠芳青花菜，爲本省之主要栽培品種，而 91-116 爲本所雜交之抗黑腐病之後代。其再生率雖然偏低，然統計祇針對經花藥培養後能獲得植株再生的花藥數；然而由一個花藥培養而來的癒合組織，均可獲得5～20株陸續分化的小植株，因此實際獲得的植株數目遠大於此（目前有100餘株），且仍在繼續分化並長出小植株。植株採根尖進行鏡檢，以調查染色體的倍數性初步已有單倍體植株，除繼續進行根尖鏡檢外並進行染色體的倍加，以育成同質二倍體，供品種改良之用，將爲未來主要的工作。

根據試驗觀察結果得知，經由間接器官（組織）發生的植株，其所長的根，其根系大多是經由莖

基部癒合組織再長出，直接由莖基部長出很少。在傳統洋菜培養基下培養，當外移時均需清洗根部附著的洋菜，以防止雜菌污染發黴，因此在清洗時往往會使植株莖葉受傷（因組織培養苗之植株細小又脆弱），且易將莖基部癒合組織弄掉損及根系；況且根長在癒合組織上對作物往後生長亦有不利之影響。因此若先將培養的洋菜介質，換成試管外育苗栽培用的介質；並利用扦插莖段的方式，讓莖基部重新長根後，再直接由試管中移到相同的介質上，同時以清水澆灌，不必經過清洗的階段，結果顯示此法之成活率極高。其可能之原因，據調查利用這種方法有幾個特點：

一、莖基部經暗處理（蛭石和珍珠石不透光）白化後，較易促進根的生長。

二、介質鬆而不散（根系包圍），易移植，和外界介質相同適應性高。

三、移植時根系完整（類似穴盤育苗原理），可提高移植成活率。

四、不需清洗，可減少損傷腐爛及洋菜所造成的雜菌污染。

五、高濃度的糖份、鹽類及有機質等培養液，可直接被稀釋，不會造成雜菌滋生。

可能由於這些有利的條件；使移植成活率高達98%（1僅株腐爛死亡）；此法應用於其他十字花科作物如千寶菜及小白菜的移植，存活率也高達95%以上（資料尚未發表）。因此若能利用此種方法，將可大爲提高蕓苔屬植物組織培養苗移植時的成活率。

初步染色體檢定，證實有單倍體植株再生，將進一步加強所有植株的染色體檢定；而單倍體植株的大量繁殖及染色體倍加的研究，是未來工作的重點。

誌 謝

本研究承農委會經費補助【81農建-12.1-糧-67(27)，82科技-1.1-糧-56(27)】，特此申謝。

引用文獻

1. 沈再發。1986。十字花科蔬菜生產問題及研究方向。蔬菜研究及生產改進研討討會專刊。86—97頁。農林廳和中國園藝學會編印。
2. 何偉眞。1977。蕓苔屬蔬菜之單倍體培養 I .青花菜之花藥培養。種苗改良繁殖場試驗報告 5 ：23—29。
3. 賴本智、許家言、葉常青、蔡新聲。1991。蘆筍花藥培養之全雄育種 I .品種及單株間花藥培養效率之研究。中華農業研究 40(1)：94—101。
4. 臺灣農業年報。1994。臺灣省農林廳出版八十三年版。園藝作物蔬菜 65—103頁。
5. Anandarajah, K., L. Kott; W. D. Beversdorf, and B. D. Mckersie.1991. Induction of desiccation tolerance in microspore-derived embryos of Brassica napus L. by thermal stress. Plant Science 77：119—123.
6. Arnison, P. G., P. Donaldson, L. C. C. Ho and W. A. Keller.1990. The influence of various physical parameters on anther culture of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*). Plant Cell Tissue and Organ Culture 20：147—155.
7. Biddington, N. L. and H. T. Robinson. 1990. Variations in response to high temperature treatmants in anther culture of brussels sprouts. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 22：48—54.
8. Dunwell, J. M. 1985. Haploid cell culture. pp.21—26. In：Dixon. R. A.(ed) Plant cell culture. A practal aproach. ILR Press, Oxford.
9. Fabijanske, S. F., H. Altosaar, and P. G. Arnison. 1991. Heat shock response during anther culture of broccoli (*Brassica oleracea* L. var.*italica*). Plant Cell. Tissue and Culture 26：203—212.
10. Kameya, T. and K. Hinata. 1970. Induction of haploid plants from pollen grains of *Brassica*. Japan. J. Breed. 20(2)：82—87.
11. Keller, W. A., T. Rajhathy, and J. Lacapra. 1975. In vitro production of plants from pollen in *Brassica compestris*. Can. J. Genet. Cytol.17：655—666.

12. Keller, W. A. and K. C. Armstrong. 1977. Embryogenesis and plant regeneration in *Brassica napus* anther culture. Can. J. Bot. 55 : 1383—1388.

13. Keller, A. and K. C. Armstrong. 1979. Stimulation of embryogenesis and haploid production in *Brassica campestris* anther culture by elevated temperature treatments. Theor. Appl. Genet. 55 : 65—67.

14. Keller, W. A. and K. C. Armstrong. 1983. Production of haploids via anther culture in *Brassica oleracea* var. *italica*. Euphytica32 : 151—159.

15. Keller, W. A. 1984. Anther culture of *Brassica*. In "Cell culture and somatic cell genetics of plants. pp. 302—310. Vol.1" Vasil, I. K. (ed.). Academic Press, New York.

16. Lelu, M. A. and H, Bollon. 1990. Cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) and Brussels sprout (*Brassica oleracea* var. *germmifera*) : In vitro production of haploid. pp.358—373. In : Bajaj, Y.P.S(ed.). Haploid in crop improvement I. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

17. Lichter, R. 1981. Anther culture of *Brassica napus* in a liquid culture medium. Z. pflanzenphysiol. 103 : 229—237.

18. Morrison, R. A. and D. A. Evans. 1988. Haploid plant from tissue culture : New plant varieties in a shortened time frame. Biotech. 6 : 684—690.

19. Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15 : 473—497.

20. Ockendon, D. J. and R. A. Sutherland. 1987. Genetic and non-genetic factors affecting anther culture of Brussels sprouts (*Brassica oleracea* var. *germmifera*). Theor. Appl. Genet.74 : 566—570.

21. Phippen, C. and D. J. Ockendon. 1990. Genotype, plant, bud size and media factors affecting anther culture of cauliflowers (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*). Theor. Appl. Genet. 79 : 33—38.

22. Quazi, H. M. 1978. Regeneration of plants from anthers of broccoli (*Brassica oleracea* L.). Ann. Bot. 42 : 473—475.

23. Sato, T., T. Nishio, and M. Hirai. 1989. Varietal differences in embryogenic ability in anther culture of Chinese Cabbage (*Brassica campestris* ssp. *Pekinensis*). Japan. J. Breed. 39 : 149—157.

24. Takahata Y., C. C. W. Brown, and W. A. Keller. 1991. Effect of donor plant age and inflorescence age on microspore culture of *Brassica napus*L. Euphytica 58 : 51—55.

25. Torrizo, L. B. and F. J. Zapata. 1986. Anther culture in rice : IV The effect of abscisis acid on plant regeneration. Plant Cell Rep. 5 : 136—139.

26. Tsunoda, S., K. Hinata, and C. G. Campo. 1980. *Brassica* crops and wild allies. Biology and breeding. Japan Scientific Socities Press, Tokyo. 354pp.

Anther Culture of Cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) and Broccoli (*B. oleracea* L. var. *italica*)

I. Varieties, Developmental Stages and Cultural Medium Relation with Regeneration[1]

You-Ming Chang, Pan-Chi Liou and Chi-Hsiung Hsiao[2]

Summary

Cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) and broccoli (*B. oleracea* L. var. *italica*) anthers containing microspores between tetrad and late uninucleate stages (flower bud is about 2 to 4 mm in length) were successfully cultured on MS medium supplemented with 2, 4-D and BA for callus induction. Among 11 cabbage varieties, the callus formation was much improved in liquid medium instead of agar medium, and characterized with smooth and friable texture. The callus formation rates were ranged from 0 to 47.3% varied with varieties. Similar result was also observed from 11 varieties of broccoli. Higher frequencies of callus formation were derived from anther cultured on MS medium containing 0.5 ppm BA and 0.5~1 ppm 2,4-D. The regeneration capability of anther-derived callus was tested by 0.5 ppm BA with 3 levels (0, 0.5 and 1.0ppm) of NAA. Shoot regenerated through indirect organogenesis were observed. For root induction, plantlet shoots were aseptically subcultured by cutting on vermiculite mixed with perlite, and this also gave a hardening treatment. Up to 98% of the plantlets were survived after transplanting using this method. Some haploid plants were detected by the chromosome assay of root tip tissue.

Key Words : Broccoli, Cabbage, Anther culture, Haploid.

1. Contribution No. 1829 from Taiwan Agricultural Research Institute.
2. Respectively, Assistant Horticulturist, Associate Horticulturist, and Senior Horticulturist and Head of Department of Horticulture, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.